

STØTTET AF

Kartoffelafgiftsfonden

Nye forædlingsteknikker (NGT) - fordele og ulemper samt de realistiske perspektiver

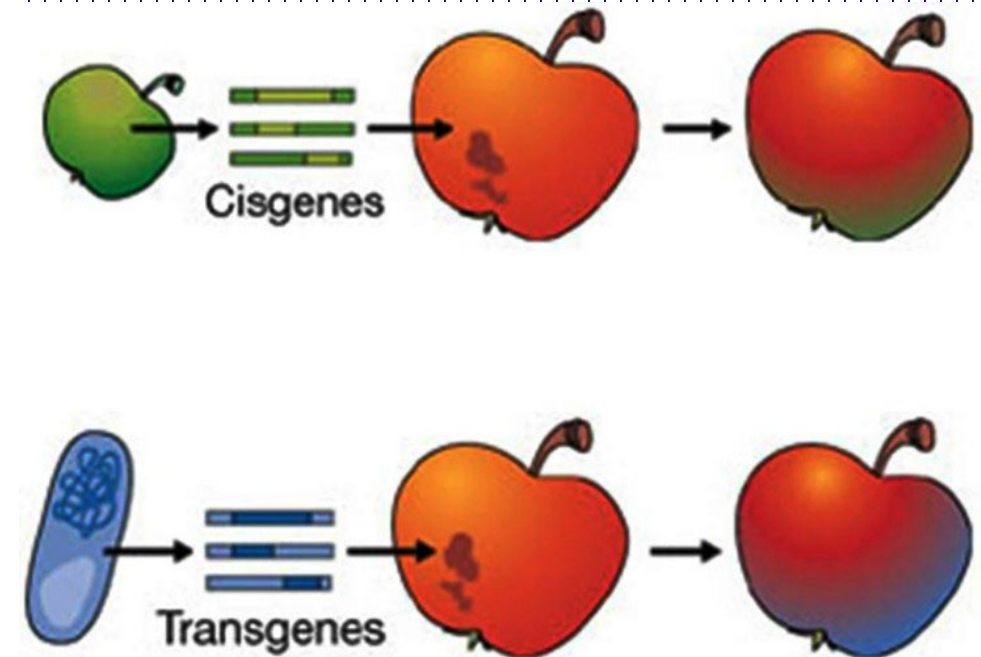
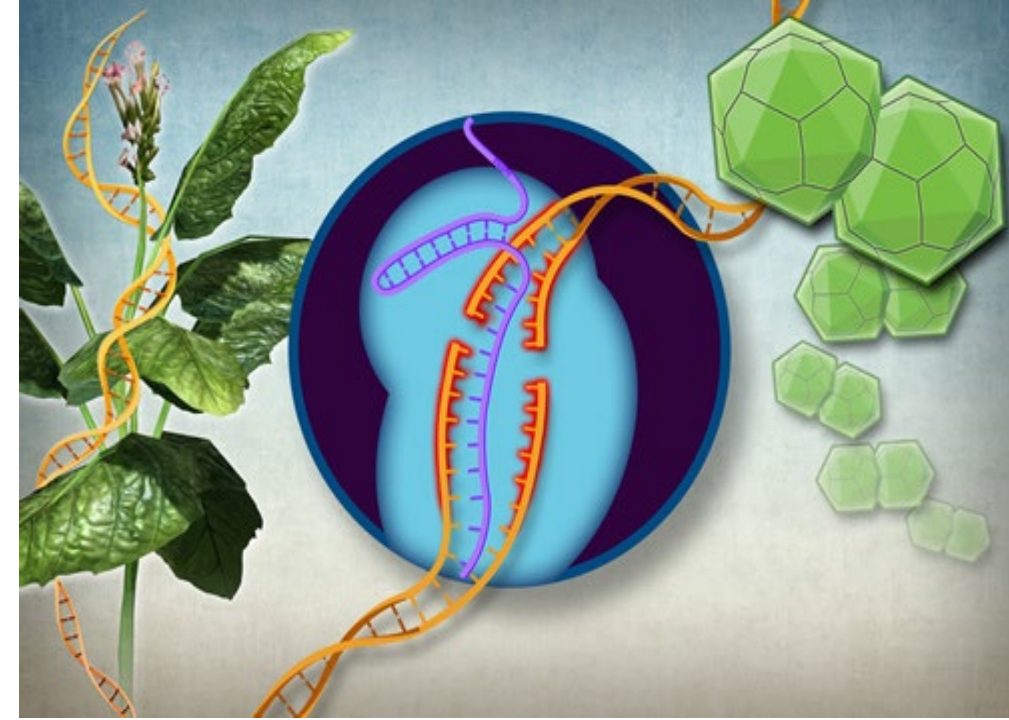
Kåre Lehmann Nielsen

Professor, Aalborg Universitet



NGT (Nye genomteknikker) - defination

- ▶ Molekulære avlsteteknikker, der kan ændre en organismes genetiske materiale, og som er udviklet efter vedtagelsen af EU's gmo-lovgivning i 2001. (EFSA)
- ▶ EU kommissionen har fremlagt et lovudkast om regulering af NGT for planter som behandles nu.
- ▶ Mårettet og præcis ændringer i DNA.
 - ▶ Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CrispR) sammen med Cas9 (CrispR associated protein 9) – CrispR/Cas9
 - ▶ Cisgenese – overførsel af gener indenfor samme gene pool



CrispR kan....

Forudsætning

Vi skal kende den præcise DNA sekvens i det gen som vi ønsker at editere.

Genomics – kartofflen er tetraploid (4 sæt kromosomer med ~1 mia baser i hvert sæt)

• Handling

- gRNA kan syntetiseres kemisk og alle sekvenser kan laves

- gRNA/Cas9 kan indføres i celler

- NHEJ reparerer uperfekt

- Ændringer i DNA sekvens

Konsekvens

- Præcis Targeting kan opnås ved binding til "komplimentært" sted på DNA i targetgenet.

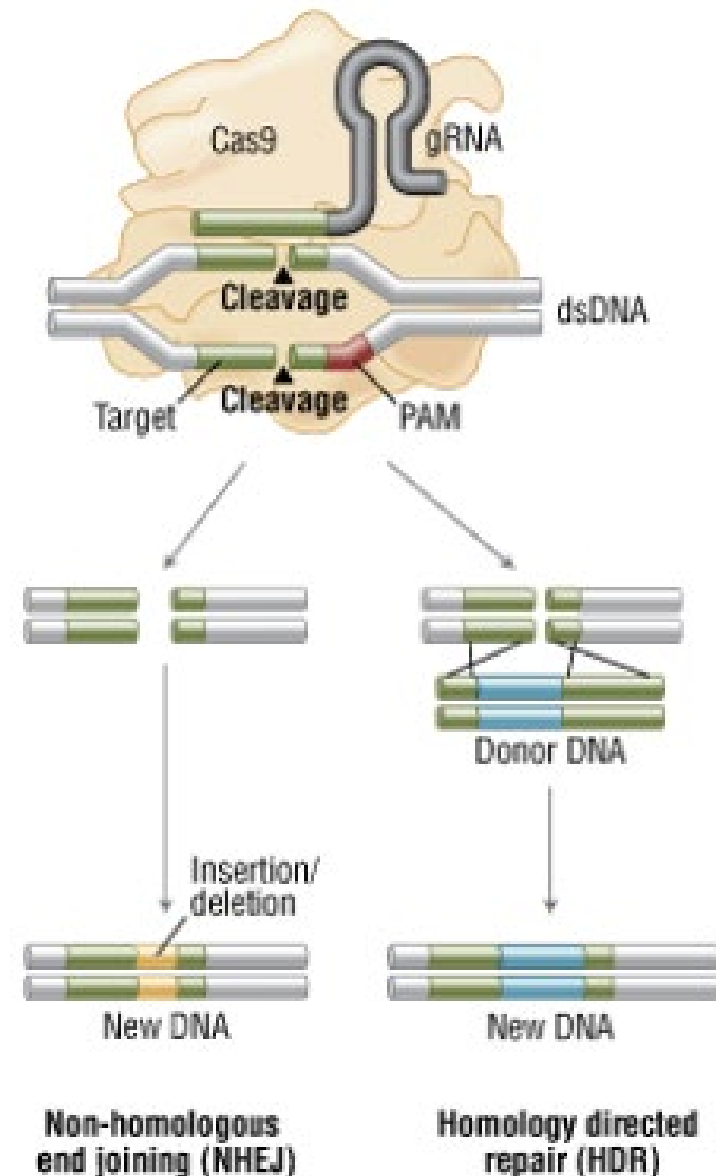
- gRNA "guider" Cas9 til targetsite
- Cas9 kløver begge DNA strenge

- Insertioner og deletioner i DNA

- Ødelægger den biologiske funktion af target gen – "Gene Knock-out"

Kartoflensmagerdejligt → Karejligt

A. Genome Engineering With Cas9 Nuclease



Ulemper

Ingen kendt S-faktor i nogen planter har virket så godt som mlo ...

Kun få S-faktorer er kendt i kartoffel/skimmel

Ingen kendte er virkelig effektfulde S-faktorer

Recessive træk i tetraploider er "umulige" gennem traditionel forædling – kræver molekylære metoder

Teknikkerne på området er "tæppebombet" med patenter og uafklarede patentstridigheder



Hvad kan vi forvente i kartoffel/skimmel... (min vurdering)

Bredspektret resistens - editerede linjer vil have forøget resistens mod skimmel, men også mod andre sygdomme

Relativt små ændringer i baggrundssortens øvrige egenskaber

På kort sigt (~3-5 år) - Resistens vil ikke være meget kraftig – i slemme skimmelår – ringe beskyttelse

På lang sigt (>20 år): kan mere indgående forståelse af S-faktorer lede til kraftig forøget resistens via editering.



Cisgenese kan ...

Forudsætning

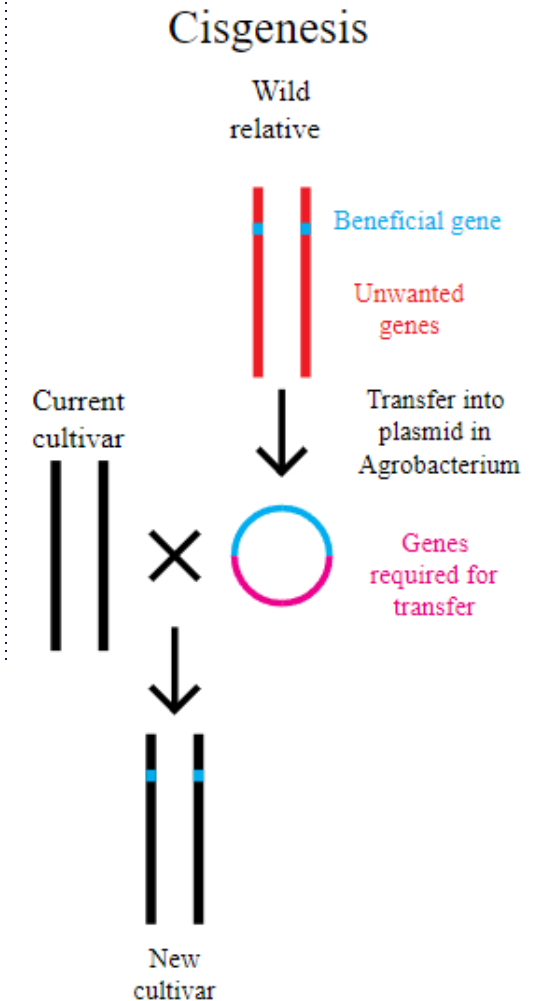
Vi skal have en fysisk kopi af det DNA som vi ønsker at indføre i en elitesort
Enten ved at isolere den eller bestemme DNA sekvensen og syntetisere den.

Handlinger

- DNA kan indsættes et tilfældigt sted i genomet i en elitesort (typisk vha Agrobacterium medieret transformation)

Konsekvenser

- Et gen på det indsatte DNA vil blive udtrykt og den biologisk funktion vil virke i elitesorten
- Elitesorten får adderet nye egenskaber



Hvad kan cisgenese med sygdomsresistens?

Problem

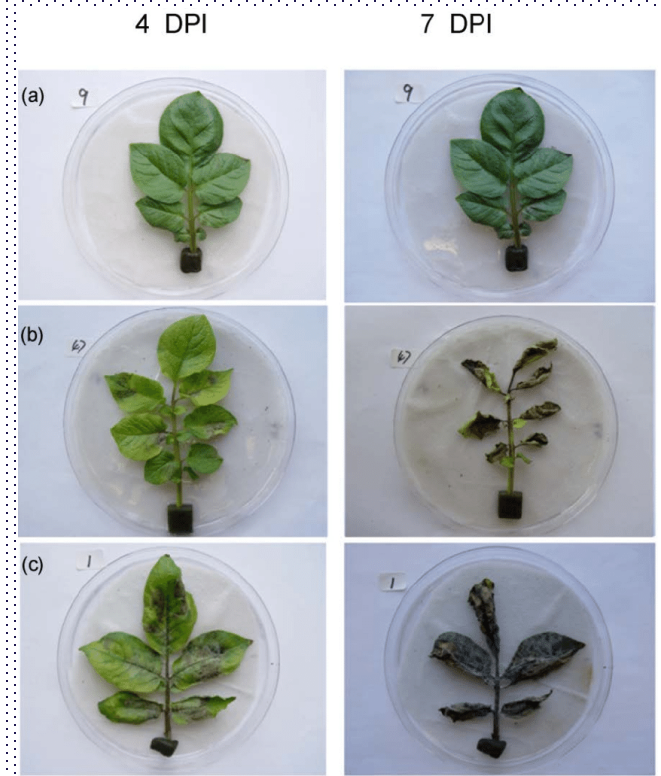
R-gener (NBS-LRR) giver højeffektiv racespecific resistens men brydes hurtigt

Løsning

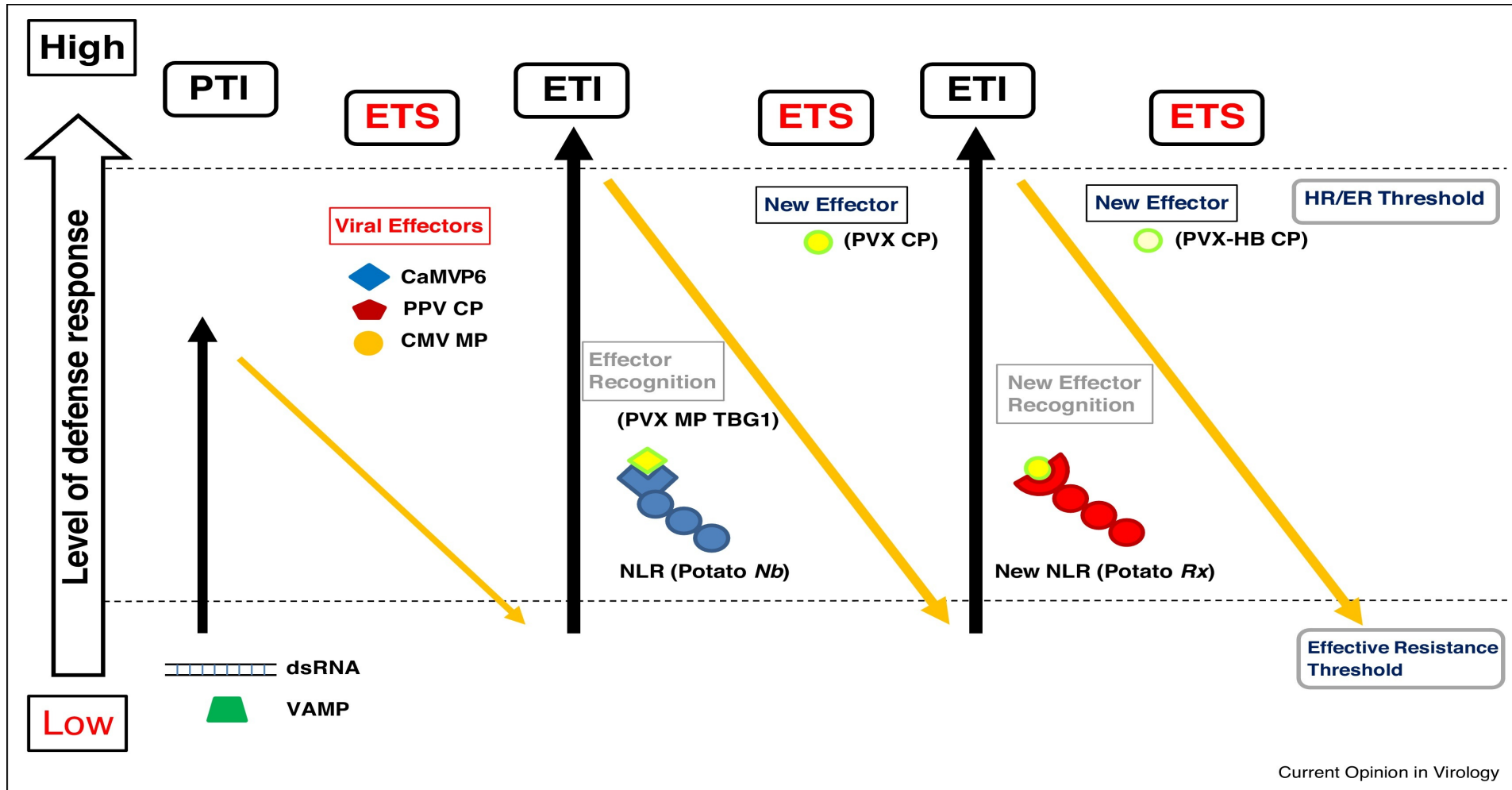
R-gen pyramidisering (gene stacking) af komplementære R-gener i eksisterende elitesorter

Kræver

Kendskab til R-gen/virulens faktor parring for at identificere komplementaritet



Evolution of planteimmunitet – R-gener



Pyramidisering af gener samtidig skaber en barriere for evolution

Principper for

- **Genetisk** variation i population
- **Reproduktion**
- **Fitness** begrænset (survival of the fittest)
- **Selektion** baseret på fitness



af R-gener

ion i skimmelsygdommen og en gang imellem sker kryder vekselvirkningen og R-gen tilfældigt.

er fitness fordi der er mere R-gen

sektion og ingen selektionsforøgelse

Fordele og ulemper ved genpyramider

Min vurdering af perspektiver

Fordele

- Langvarig, kraftig resistens
- Vi har indgående kendskab til de enkelte R-gener
- R-gener er dominant
- Vi ved at planterne kan være resistente mod mange sygdomme (og derfor mindre brug af pesticider)
- Eksisterende og tidligere kendte R-gener som er kendt at være effektive
- Metoder er ikke patenterede

Højeffektiv resistens - cisgene linjer vil have kraftig forøget/fuldstændig resistens mod skimmel

50-75% reduktion af pesticidforbrug i kartofler

Ingen ændringer i baggrundssortens øvrige egenskaber

På kort sigt (~4-6 år): Linjer med gen-pyramider vil have meget kraftig resistens.

På lang sigt (>25 år): Anvendelse af enkelt R-gen og dårlige kombinationer kan føre til resistens mod R-gen pyramider

R-gener i detalje – >50% er allerede kendt
Måske 25-35 i hele

Ikke nyttige i R-genpyramider -
ud!

Bredt bredspektret resistens dog mere
en enkelt R-gen

Indte R-gener alene eller sammen
for vil give sygdommen mulighed for
at brede sig hurtigt.

skimmel forøges

Mine konklusioner

- NGT skaber nye og vigtige muligheder for kartoffelforædling, herunder sygdomsresistens
- NGT er et nødvendigt og vigtigt middel til at nå en kartoffelproduktion med væsentligt reduceret pesticidforbrug
- Genome editing vil formentligt være bedst til forbedre andre træk end sygdomsresistens (stivelsesmodifikationer, kvalitetstræk etc.) – i hvert fald på kort sigt i mangel på ”mlogen” for skimmel
- Cisgenese er den ”korteste” af de nye veje til højeffektiv resistens mod skimmel i kartofler.
- Disclaimer: EU kommissionen har lavet et udkast til et lovforslag – det skal jo også vedtages.

